環境技術実証モデル事業

化学物質に関する簡易モニタリング技術分野

# 化学物質に関する簡易モニタリング技術<br>実証試験結果報告書

| | |
|---|---|
| 環境技術開発者 | 株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー |
| 技術・製品の名称 | 《技術名》ELISA法（酵素免疫測定法）<br>《製品名》クロロタロニル測定キットE<br>（マイクロプレート） |

平成１８年３月

名　古　屋　市

## はじめに

環境技術実証モデル事業は、既に適用可能な段階にありながら、環境保全効果等についての客観的な評価が行われていないために普及が進んでいない先進的環境技術について、その環境保全効果等を第三者が客観的に実証する事業をモデル的に実施することにより、環境技術実証の手法・体制の確立を図るとともに、環境技術の普及を促進し、環境保全と環境産業の発展に資することを目的とするものである。

本実証試験は、平成１７年５月１６日　環境省総合環境政策局が策定した実証試験要領（第２版）に基づいて選定された実証対象技術について、同実証試験要領に準拠して実証試験を実施することで、製品性能の信頼性等を客観的に実証するものである。

（実証項目）

- 製品性能の信頼性
- 一般環境モニタリングでの実用性
- 製品操作等の簡便性

本報告書は、その結果を取りまとめたものである。

（実証機関）
名古屋市環境科学研究所
所長　柴田　伸幸

## （要　　　　　　　　約）

| | |
|---|---|
| 製品名称 | クロロタロニル測定キットE |
| 環境技術開発者 | 株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー |
| 実証機関 | 名古屋市 |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 実証試験の実施期間 | 平成17年10月24日～平成17年12月16日 |

## １．実証対象技術の概要

この実証対象製品は、クロロタロニルに対する特異的なモノクローナル抗体を応用した、環境中（対象環境媒体：水質、底質）のクロロタロニル測定ELISAキットである。

ELISAの原理は、競合反応（クロロタロニル濃度が高い試料では吸光度が低く、クロロタロニル濃度が低い試料では吸光度が高い）で、マイクロプレート（96 ウェル）を使用したキットである。

## ２．実証試験の概要

実証試験項目の内容は、次のとおりである。

| 項　　目 | 内　　　　容 |
|---|---|
| １．基本的な性能 | |
| (1)測定範囲 | 市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いたELISA測定値の変動等に基づき、数値的な設定の妥当性を実証する。 |
| (2)検出下限及び定量下限 | 市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによるELISA測定値の標準偏差に基づき、数値的な設定の妥当性を実証する。 |
| (3)繰返し再現性 | 市販標準品で調製した指定濃度系列の中央付近の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによるELISA測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。 |
| (4)日間再現性 | 同一測定者が市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なる条件（日付）での同一操作によるELISA測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。 |
| (5)期間再現性 | 市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて製造後一定期間経過した製品の操作によるELISA測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。 |
| (6)プレート間再現性 | 市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なるロットや異なるプレート間でのELISA測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。 |
| (7)交差反応性 | 市販標準物質及び類似物質を用い調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて類似物質別のELISA測定値の相違等に基づき、交差反応性を実証する。 |

| ２．実用的な性能 | |
|---|---|
| (1)回収特性 | 環境試料を模擬し市販標準品で指定濃度範囲の中央付近の１濃度に混合調製した試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の比較に基づき、回収特性を実証する。 |
| (2)測定精度 | 複数の河川地点から得られた河川水の環境試料（濃度未知）を用いた ELISA 測定値の変動や操作手順・操作方法の特徴等に基づき、測定精度、前処理妥当性、操作簡便性等による環境試料への適用性を実証する。 |

## ３．実証対象製品のデータ

環境技術開発者より提出された実証対象製品のデータは、次のとおりである。

| 項目 | 記　入　欄 |
|---|---|
| 製品名 | クロロタロニル測定キット E |
| 型番 | EL108-01 |
| 販売・製造元 | 株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー |
| 重量（g） | 350ｇ |
| 価格（円） | 105,000 円 |
| 分析対象物質 | クロロタロニル |
| 対象環境媒体 | 水質・底質・生物・その他（　　　）　底質試料は抽出操作が必要。 |
| 利用用途 | 環境水その他の水質モニタリング |
| 標準試薬・種類 | 付属（調製済／調製要） |
| 操作環境（室温） | 室温（15～25℃） |
| 製品保管条件 | 4～8℃ |
| 製品保証期間 | 製造後 3 ヶ月間 |
| 同時測定数（最多） | 46 試料 |
| 全体測定時間 | 2～3 時間 |

## ４．実証試験結果の概要

| 項目 | 結果概要 | |
|---|---|---|
| 実証機関 | 名古屋市環境科学研究所 | |
| 製品名称 | クロロタロニル測定キットＥ | |
| 環境技術開発者 | 株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー | |
| 対象物質 | クロロタロニル | |
| 実証試験計画書の策定 | 平成 17 年 10 月 | |
| 実証試験の実施期間 | 平成 17 年 10 月 24 日～平成 17 年 12 月 16 日 | |
| 1) 基本的な性能 | 実験データ | 【参考：製品データ】 |
| ①測定範囲 | 調整濃度 0.15～1.5μg/L での<br>相対値：91～104%、CV：0.6～3.9% | 0.15～1.5 μg/L |
| ②検出下限<br>及び定量下限 | 調整濃度 0.15 μg/L の SD から求めた<br>検出下限（3SD）：0.016μg/L<br>定量下限（10SD）：0.055 μg/L<br>0 濃度から求めた検出下限：0.011 μg/L | 測定下限　0.15 μg/L（検出下限、定量下限のデータなし） |
| ③繰返し再現性 | 調整濃度 0.5 μg/L での CV：1.4%<br>（SD：0.0068 μg/L） | 測定濃度 0.20～1.2 μg/L での CV：5.0～5.4%(きゅうり) |
| ④日間再現性 | 調整濃度 0.15～1.5 μg/L での CV：6.7～11%<br>（SD：0.010～0.12 μg/L） | 測定濃度 0.20～1.2 μg/L での CV：3.6～5.6%（きゅうり） |
| ⑤期間再現性 | 調整濃度0.15～1.5 μg/Lにおいて１ヶ月を隔てて２回測定した場合の CV<br>０ヶ月での CV：0.11～1.4%<br>１ヶ月での CV：1.6～7.8% | 保存安定性２ヶ月 |
| ⑥プレート間再現性 | 調整濃度 0.15～1.5 μg/L での CV：2.8～9.4%<br>（SD：0.014～0.044 μg/L） | 記述なし |
| ⑦交差反応性 | 交差反応率：<br>フサライド(31%)<br>PCP(0.12%) | 交差反応率：<br>フサライド(38.7%)<br>PCP(1.7%) |
| ⑧その他 | | |
| 2) 実用的な性能 | | |
| ①回収特性 | 回収率 114～205%<br>（試料：河川水、調整濃度 0.5μg/L、妨害物質：フミン酸ナトリウム 0～50mg/L） | 回収率 94.1～109.4%（検体：きゅうり） |
| ②測定精度等 | ３地点の河川水について ELISA 法、GC/MS 法とも検出されず<br>＜クロロタロニル添加試験＞<br>河川水にクロロタロニル 0.17μg/L 添加<br>ELISA 法：回収率 107～123%、CV：1.0～5.6%<br>GC/MS 法：回収率 111～115%、CV：3.0～7.8% | 記述なし |
| ③その他 | | |

| 結果の検討と考察 |
| --- |
| １） 製品性能の信頼性<br>　実証試験で実施した基本性能７項目の全てについて、申請データ(0.15～1.5μg/L)の濃度範囲において十分な信頼性が確認された。<br><br>２） 一般環境モニタリングでの実用性<br>　河川水を用いた添加回収試験の結果から、妨害物質（フミン酸ナトリウム）による正の妨害は認められたものの、検出感度及び測定精度とも実用に耐えうると考えられた。今後、マトリックスの異なる環境試料に対するデータを蓄積することにより、環境モニタリングへの実用化が可能と考えられた。<br><br>３） 製品操作等の簡便性<br>　一般環境モニタリングでの使用を想定した場合、測定結果が得られるまで約２～３時間で、同時に最大２６試料（３重測定）の測定が可能となる。なお、本試験での GC/MS－SIM 法では、３試料（３重測定）の測定に約３日が必要であった。<br>取扱説明書については、わかりやすく説明してあり、特に問題はないと考えられる。 |

# （本　　　　　　　　編）

目 次


1.実証試験の概要 1
1.1 実証対象製品のデータ 1
1.2 実証試験結果 2
(1)基本的な性能 2
(2)実用的な性能 3
2.実証対象技術及び実証対象製品の特性と説明 4
2.1 実証申請者 4
2.2 実証対象技術の原理 4
2.3 実証対象製品のデータ（性能、製品製造者、製品番号等） 4
3.実証試験実施体制 5
3.1 実証試験申請者 5
3.2 実証試験実施者 5
3.3 実証試験実施場所 5
(1)ＥＬＩＳＡ法 5
(2)機器分析法 5
3.4 実証試験実施期間 5
4．試験方法 6
4.1 共通して行う試験操作 6
(1)製品の操作 6
(2)検量線作成用標準溶液の調製 6
(3)吸光度の測定 6
(4)検量線の作成 6
(5)実測濃度の算出 6
4.2 基本的な性能 7
(1)測定範囲 7
(2)検出下限及び定量下限 8
(3)繰返し再現性 9
(4)日間再現性 10
(5)期間再現性 11
(6)プレート間再現性 12
(7)交差反応性 13
4.3 実用的な性能 14
(1)回収特性 14
(2)測定精度等 15
5.試験結果 16
5.1 基本的な性能 16
(1)測定範囲 16

(2)検出下限及び定量下限 …… 17
(3)繰返し再現性 …… 19
(4)日間再現性 …… 20
(5)期間再現性 …… 24
(6)プレート間再現性 …… 26
(7)交差反応性 …… 30
5.2 実用的な性能 …… 33
(1)回収特性 …… 33
(2)測定精度等 …… 34
6.実証試験結果の検討と考察 …… 37
(1)製品性能の信頼 …… 37
(2)一般環境モニタリングでの実用性 …… 37
(3)製品操作等の簡便性 …… 37

付録 ： 実証試験計画書

# 1．実証試験の概要

## 1.1 実証対象製品のデータ

環境技術開発者より提出された実証対象製品のデータは、下表に示すとおりである。

表 1.1.1 実証対象製品のデータ

| 項目 | 記　入　欄 |
|---|---|
| 製品名 | クロロタロニル測定キット E |
| 実証申請者 | 株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー　代表取締役社長　河野　猛 |
| 実証試験実施者 | 名古屋市環境科学研究所　所長　柴田　伸幸 |
| 実証試験実施場所 | 〒457-0841　名古屋市南区豊田五丁目 16-8<br>名古屋市環境科学研究所 |
| 実証試験実施期間 | 平成 17 年 10 月 24 日～平成 17 年 12 月 16 日 |
| 製品名 | クロロタロニル測定キット E |
| 型番 | EL108-01 |
| 販売・製造元 | 株式会社ホリバ・バイオテクノロジー |
| 重量（g） | 350ｇ |
| 価格（円） | 105,000 円 |
| 分析対象物質 | クロロタロニル |
| 対象環境媒体 | 水質・底質・生物・その他（　　　）　底質試料は抽出操作が必要。 |
| 利用用途 | 環境水その他の水質モニタリング |
| 標準試薬・種類 | 付属（調製済／調製要） |
| 操作環境（室温） | 室温（15～25℃） |
| 製品保管条件 | 4～8℃ |
| 製品保証期間 | 製造後 3 ヶ月間 |
| 同時測定数（最多） | 46 試料 |
| 全体測定時間 | 2～3 時間 |

## 1.2 実証試験結果

環境技術開発者が実証申請書に示した基本的な性能に関するデータと実証試験結果はよく一致し、申請通りの基本性能を有していることを確認した。実用的な性能についても、回収特性及び測定精度とも問題なかった。

### (1) 基本的な性能

#### ① 測定範囲

申請データ：0.15～1.5μg/L

実証データ：0.15～1.5μg/L

（変動係数 0.60～3.9%、相対値 91～104%）

#### ② 検出下限及び定量下限

申請データ：測定下限 0.15μg/L（検出下限、定量下限のデータなし）

実証データ：測定濃度 0.15μg/L の SD より求めた検出下限（検出下限１）

0.016μg/L、定量下限 0.055μg/L

0 濃度の SD より求めた検出下限（検出下限２）0.011μg/L

検出下限 1：指定濃度系列下限付近の濃度についての 8 回繰り返し測定で得られた測定濃度の標準偏差（SD）より、3 倍の値（3SD）として得られた値。定量下限はこの標準偏差の 10 倍の値（10SD）。

検出下限 2：指定濃度系列 0 濃度についての 10 回繰り返し測定で得られた吸光度の標準偏差（SD）の 3SD 値を、0 濃度の吸光度から差し引いた吸光度より、検量線で換算された値。

#### ③ 繰返し再現性

申請データ：測定濃度 0.20、0.59、1.2μg/L における変動係数 5.0～5.4%

実証データ：測定濃度 0.50μg/L における変動係数 1.4%

#### ④ 日間再現性

申請データ：測定濃度 0.20、0.59、1.2μg/L における変動係数 3.6～5.6%

実証データ：測定濃度 0.15～1.5μg/L における変動係数 6.7～11%

#### ⑤ 期間再現性

申請データ：保存安定性２ヶ月

実証データ：約１ヶ月間冷蔵庫内で密閉保存した同一ロットの２キットに対し、

測定濃度 0.15～1.5μg/L において

0 ヶ月の CV：0.11～1.4%

1 ヶ月後の CV：1.6～7.8%

#### ⑥ プレート間再現性

申請データ：記述なし

実証データ：測定濃度 0.15～1.5μg/L における変動係数 2.8～9.4%

### ⑦ 交差反応性

申請データ：フサライド 38.7%、PCP1.7%

実証データ：フサライド 31%、PCP0.12%

## (2) 実用的な性能

### ① 回収特性

申請データ：回収率 94.0～109.4%（妨害物質：きゅうり）

実証データ：回収率 114～205%（妨害物質：フミン酸ナトリウム）

回収率 205%はフミン酸ナトリウム 50mg/L 添加したときの回収率

### ② 測定精度等

申請データ：記述なし

実証データ：実試料（河川水）３試料について、ガラス繊維ろ紙でろ過したもの（ろ液）を ELISA 法で、未処理のものを GC/MS 法で、それぞれ３回測定したところ、ELISA 法では全て定量下限（0.055μg/L）未満であり、GC/MS 法では全て MDL（0.0069μg/L）未満であった。一方、実試料（河川水）３試料にクロロタロニル標準品を添加し、クロロタロニル濃度を 0.17μg/L とした試料を測定した。ELISA 法では回収率 107～123%で、測定値の変動係数は 1.0～5.6%であった。また、GC/MS 法では回収率 111～115%で、測定値の変動係数は 3.0～7.8%であった。

## 2. 実証対象技術及び実証対象製品の特性と説明

### 2.1 実証申請者

企　業　名：株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー
担当者所属・氏名：試薬事業部　開発・製造部　伊東　茂壽
住　　所　：〒601-8315　京都市南区吉祥院車道町48番地
電話番号　：075-692-1786
ＦＡＸ番号：075-692-1790
e-mail アドレス：Shigekazu.ito@horiba.com

### 2.2 実証対象技術の原理

この実証対象製品は、申請者が開発したクロロタロニルに対する特異的なモノクローナル抗体を応用した、環境中（対象環境媒体：水質、底質、生物、その他）のクロロタロニル測定 ELISA キットである。

ELISA の原理は、競合反応（クロロタロニル濃度が高い試料では吸光度が低く、クロロタロニル濃度が低い試料では吸光度が高い）で、マイクロプレート（96 ウエル）を使用したキットである。

### 2.3 実証対象製品のデータ（性能、製品製造者、製品番号等）

環境技術開発者より提出された実証対象製品のデータは、下表に示すとおりである。

**表 2.3.1　実証対象製品のデータ**

| 項目 | 記　入　欄 |
| --- | --- |
| 製品名 | クロロタロニル測定キットＥ |
| 型番 | ＥＬ108-01 |
| 販売・製造元 | 株式会社　ホリバ・バイオテクノロジー |
| 重量（g） | 350g |
| 価格（円） | 105,000 円 |
| 分析対象物質 | クロロタロニル |
| 対象環境媒体 | (水質)・底質・生物・その他（　　） |
| 利用用途 | 環境水その他の水質モニタリング |
| 標準試薬・種類 | 付属（調製済／(調製要)） |
| 操作環境（室温） | 室温（１５～２５℃） |
| 製品保管条件 | ４～８℃ |
| 製品保証期間 | 製造後３ヶ間 |
| 同時測定数（最多） | ４６試料 |
| 測定時間 | ２～３時間 |

## 3.実証試験実施体制

### 3.1 実証試験申請者

実施責任者：名古屋市環境局公害対策課長　加藤　明
所属部署　：環境局公害対策課有害化学物質対策係
担当者氏名：中村清志
住　　所　：〒460-0001　愛知県名古屋市中区三の丸三丁目１番１号
電話番号　：052-972-2677
ＦＡＸ番号：052-972-4155
e-mail アドレス：a2677@kankyokyoku.city.nagoya.lg.jp

### 3.2 実証試験実施者

実施責任者：名古屋市環境科学研究所　所長　柴田伸幸
実証試験担当者氏名：(ELISA 法)　大気騒音部　研究員　中島寛則
（機器分析法）水質部　主任研究員　小島節子
連絡窓口：水質部　主任研究員　小島節子
住　　所　：〒457-0841 名古屋市南区豊田 5 丁目 16-8
電話番号　：052-692-8481
ＦＡＸ番号：052-692-8483
e-mail アドレス：kojima@nagoyakankaken.office.to

### 3.3 実証試験実施場所

**(1) ＥＬＩＳＡ法**

名古屋市環境科学研究所

**(2) 機器分析法**

名古屋市環境科学研究所

### 3.4 実証試験実施期間

平成１７年１０月２５日～１２月１６日

## 4.試験方法

### 4.1 共通して行う試験操作

「4.2 基本的な性能」及び「4.3 実用的な性能」において、以下の方法は共通である。

**(1) 製品の操作**

製品の操作にあたっては、製品の取扱説明書を遵守するとともに、ＥＬＩＳＡに係わる品質管理システムの試験操作手順（一般的な事項）に従って行った。

**(2) 検量線作成用標準溶液の調製**

製品の取扱説明書に記載の方法により、検量線用標準溶液の希釈系列を調製した。

**(3) 吸光度の測定**

吸光度は、マイクロプレートリーダー（Labsystems 社製 Multiscan MS）で測定し、検量線作成用標準溶液及び各試験用試料溶液の吸光度とした。

**(4) 検量線の作成**

プレート毎に同時に測定したゼロブランク（ＢＬＫ：添付の希釈液等）及び検量線作成用標準溶液の吸光度（３重測定の平均値）から取扱説明書に従って検量線（取扱説明書の指示：４パラメーターによりロジスティック曲線を近似した標準曲線）を作成した。

**(5) 実測濃度の算出**

「(4)検量線の作成」で作成した検量線を用いて、各試験用試料溶液の吸光度から各実測濃度を算出した。

## 4.2 基本的な性能

### (1) 測定範囲

#### ① 試験条件

本製品の測定範囲における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.2.1 測定範囲の試験条件

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 基本的な性能・測定範囲(標準試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キットＥ<br>（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F |
| 製造年月日 | 平成 17 年 9 月 29 日 |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成 17 年 10 月 25 日　9：00　～　17：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 25℃±1℃ |
| 使用した市販標準品 | 物質名：クロロタロニル　試薬会社名：和光純薬工業<br>製品番号：200-06581　ロット番号：HSN9342 |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems 社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則 |

#### ② 試験操作

クロロタロニルを用い、10%メタノール溶液を希釈溶媒として、試験用試料溶液(0，0.15，0.30，0.60，1.5μg/L）を調製した。調製した試験用試料溶液を用いて、各調製濃度につき 3 重測定を行い、3 個の吸光度それぞれから求めた測定濃度より、平均値、標準偏差、変動係数を求めた。

### (2) 検出下限及び定量下限

#### ① 試験条件

本製品の検出下限及び定量下限における試験条件は、下表に示すとおりである。

**表 4.2.2 検出下限及び定量下限の試験条件**

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 基本的な性能・検出下限及び定量下限(標準試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キット E<br>（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F |
| 製造年月日 | 平成 17 年 9 月 29 日 |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成 17 年 10 月 25 日　9：00　～　17：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 25℃±1℃ |
| 使用した市販標準品 | 物質名：クロロタロニル　試薬会社名：和光純薬工業<br>製品番号：200-06581　ロット番号：HSN9342 |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems 社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則 |

#### ② 試験操作

クロロタロニルを用い、10％メタノール溶液を希釈溶媒として、試験用試料溶液（0.15μg/L：測定範囲の下限付近濃度）を調製した。調製した試験用試料溶液を 3 重測定で 8 回測定し、3 重測定の平均吸光度から算出した 8 個の測定濃度より標準偏差（SD）を求めた。求めた SD から得られた 3SD 及び 10SD をそれぞれ検出下限 1 及び定量下限とした。

これとは別に、指定濃度系列 0 濃度の吸光度を 10 回測定し、その標準偏差から得られる 3SD 値（吸光度）を 0 濃度の吸光度から差し引いた吸光度より、検量線を用いて換算濃度を求め、この濃度を検出下限 2 とした。

### (3) 繰返し再現性

#### ① 試験条件

本製品の繰返し再現性における試験条件は、下表に示すとおりである。

**表 4.2.3 繰返し再現性の試験条件**

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 基本的な性能・繰返し再現性(標準試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キット E<br>（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F |
| 製造年月日 | 平成 17 年 9 月 29 日 |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成 17 年 10 月 26 日　9：00　～　17：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 20℃±1℃ |
| 使用した市販標準品 | 物質名：クロロタロニル　試薬会社名：和光純薬工業<br>製品番号：200-06581　ロット番号：HSN9342 |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems 社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則 |

#### ② 試験操作

クロロタロニルを用い、10％メタノール溶液を希釈溶媒として、試験用試料溶液（0.5μg/L：測定範囲の直線付近濃度）を調製した。調製した試験用試料溶液を 3 重測定で 8 回測定し、得られた 8 個の実測濃度より平均値、標準偏差、変動係数を求めた。求めた変動係数から、繰り返し再現性について検討した。

### (4) 日間再現性

#### ① 試験条件

本製品の日間再現性における試験条件は、下表に示すとおりである。

**表 4.2.4 日間再現性の試験条件**

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 基本的な性能・日間再現性(標準試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キット E<br>（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F |
| 製造年月日 | 平成 17 年 9 月 29 日 |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成 17 年 10 月 25 日　9：00　～　17：00<br>平成 17 年 10 月 26 日　9：00　～　17：00<br>平成 17 年 10 月 28 日　9：00　～　17：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 23℃±3℃ |
| 使用した市販標準品 | 物質名：クロロタロニル　試薬会社名：和光純薬工業<br>製品番号：200-06581　ロット番号：HSN9342 |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems 社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則 |

#### ② 試験操作

同一測定者が 1 週間の異なる 3 日間において、同一ロットの異なるプレートを用いて、「（１）測定範囲」と同じ測定操作を行った。各調製濃度について得られた実測濃度の変動係数を求め、3 日間の比較から日間再現性について検討した。

### (5) 期間再現性

#### ① 試験条件

本製品の期間再現性における試験条件は、下表に示すとおりである。

**表 4.2.5 期間再現性の試験条件**

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 基本的な性能・期間再現性(標準試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キット E<br>（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F |
| 製造年月日 | 平成 17 年 9 月 29 日 |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成 17 年 10 月 28 日　9：00　～　17：00<br>平成 17 年 12 月 5 日　13：00　～　19：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 20℃±2℃ |
| 使用した市販標準品 | 物質名：クロロタロニル　試薬会社名：和光純薬工業<br>製品番号：200-06581　ロット番号：HSN9342 |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems 社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則 |

#### ② 試験操作

概ね１ヶ月ほどの間隔をおいて、同一ロットの異なるプレートを用いて、「（１）測定範囲」と同じ測定操作を行った。各調製濃度について得られた実測濃度の変動係数を求め、両者の比較から期間再現性について検討した。

### (6) プレート間再現性

#### ① 試験条件

本製品のプレート間再現性における試験条件は、下表に示すとおりである。

**表 4.2.6 プレート間再現性の試験条件**

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 基本的な性能・プレート間再現性(標準試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キットＥ<br>（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F, E-TPN002F |
| 製造年月日 | 平成 17 年 9 月 29 日（E-TPN001F)、平成 17 年 8 月 30 日（E-TPN002F） |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成 17 年 10 月 28 日　9：00　～　17：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 20℃±1℃ |
| 使用した市販標準品 | 物質名：クロロタロニル　試薬会社名：和光純薬工業<br>製品番号：200-06581　ロット番号：HSN9342 |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems 社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則 |

#### ② 試験操作

同一ロット 2 プレート及び異なるロット 1 プレートの 3 プレートを用いて、同日に「（１）測定範囲」と同じ測定操作を行った。各調製濃度について得られた実測濃度の変動係数を求め、同一ロット及び異なるロットの比較からプレート間再現性について検討した。

### (7) 交差反応性

#### ① 試験条件

本製品の交差反応性における試験条件は、下表に示すとおりである。

**表 4.2.7 交差反応性の試験条件**

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 基本的な性能・交差反応性(標準試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キット E（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F |
| 製造年月日 | 平成 17 年 9 月 29 日 |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成 17 年 10 月 31 日　9：00　～　17：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 21℃±1℃ |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems 社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則 |

**表4.2.8 使用した市販標準品**

| 物質名（標準品） | | 試薬会社名 | 規格 | 含量 | 製品番号 | ロット番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 対象物質 | クロロタロニル | 和光純薬工業 | 残留農薬試験用 | 99.0%(minimum) | 200-06581 | HSN9342 |
| 類似物質 | フサライド | 和光純薬工業 | 残留農薬試験用 | 99.0%(minimum) | 063-01593 | YPP9644 |
| | PCP | 和光純薬工業 | 残留農薬試験用 | 99.0%(minimun) | 161-08301 | YPK9651 |

#### ② 試験操作

クロロタロニル、フサライド及び PCP について調製した試料溶液で吸光度曲線（実測値は 3 重測定の平均値から求めた）を描き、吸光度曲線から類似物質の 50%発色阻害濃度を求めた。（クロロタロニルの 50%発色阻害濃度／フサライド又は PCP の 50%発色阻害濃度）×100（%）で交差率を求めた。

### 4.3 実用的な性能

#### (1) 回収特性

**① 試験条件**

本製品の回収特性における試験条件は、下表に示すとおりである。

**表 4.3.1 回収特性の試験条件**

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 実用的な性能・回収特性(模擬環境試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キットE（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F |
| 製造年月日 | 平成17年9月29日 |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成17年11月9日　9：00　～　14：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 20℃±1℃ |
| 使用した市販標準品 | 物質名：クロロタロニル　試薬会社名：和光純薬工業<br>製品番号：200-06581　ロット番号：HSN9342 |
| 使用した妨害物質名 | 物質名：フミン酸ナトリウム（フミン酸として 50-60%含有）<br>試薬会社名：アクロス社<br>製品番号：120860050　ロット番号：A0207160001 |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則 |

**表 4.3.2 使用した河川水**

| 試料番号 | 地点名 | 採水日 | 採水量 | 備考 |
|---|---|---|---|---|
| S1 | 矢田川大森橋 | 平成17年10月20日 | 3L×１本 | PH6.8　COD9.8mg/L<br>$Cl^-$27mg/L |

**② 試験操作**

グラスファイバーフィルター（GFC：孔径1.2μm）を用いて、河川水をろ過したろ液を原水とし、原水を 10%メタノール溶液とした後、測定範囲の中央付近となるようにクロロタロニルを添加（0.50μg/L）するとともに　、妨害物質としてフミン酸ナトリウムを添加（0，1，5，10，50 mg/L）して、試験用試料溶液を調製した。

調製した試験用試料溶液について、3 重測定した実測濃度から回収率を求め、フミン酸ナトリウムに対する製品の回収特性を検討した。

### (2) 測定精度等

#### ① 試験条件

本製品の測定精度等における試験条件は、下表に示すとおりである。

**表 4.3.3 測定精度等の試験条件**

| 項目 | 内容 |
|---|---|
| 実証項目 | 実用的な性能・測定精度等(環境試料試験) |
| 対象物質 | クロロタロニル |
| 対象製品名 | クロロタロニル測定キット E<br>（マイクロプレート） |
| 製品番号 | ロット番号：E-TPN001F |
| 製造年月日 | 平成 17 年 9 月 29 日 |
| 測定範囲（製品仕様） | 0.15～1.5μg/L |
| 試験日時 | 平成 17 年 12 月 5 日　16：00　～　19：00 |
| 試験場所 | 名古屋市環境科学研究所 |
| 試験時室内温度 | 20°C±2°C |
| 検量線用ソフト名 | GENESIS-LITE（Labsystems 社製） |
| 試験機関・担当者 | 名古屋市環境科学研究所大気騒音部　研究員　中島寛則(ELISA 法)<br>名古屋市環境科学研究所水質部　主任研究員　小島節子(機器分析法) |

**表 4.3.4 使用した環境試料**

| 試料番号 | 地点名 | 採水日 | 採水量 | 備考 |
|---|---|---|---|---|
| S1 | 矢田川大森橋 | 平成 16 年 12 月 20 日 | 3L×3 本 | PH6.8　COD9.8mg/L<br>$Cl^-$27mg/L |
| S2 | 庄内川明徳橋 | 同上 | 3L×3 本 | PH6.7　COD9.0mg/L<br>$Cl^-$1.14×$10^3$mg/L |
| S3 | 新川日の出橋 | 同上 | 3L×3 本 | PH6.6　COD6.3mg/L<br>$Cl^-$1.60×$10^3$mg/L |

#### ② 試験操作

グラスファイバーフィルター（GFC：孔径 1.2μm）を用いて、河川水をろ過したろ液を原水とし、原水を 10%メタノール溶液とした後３重測定し、その実測濃度を求めた。

## 5.試験結果

### 5.1 基本的な性能

#### (1) 測定範囲

#### ① 検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は、以下に示すとおりである。

**表 5.1.1 検量線用標準溶液の測定データ**

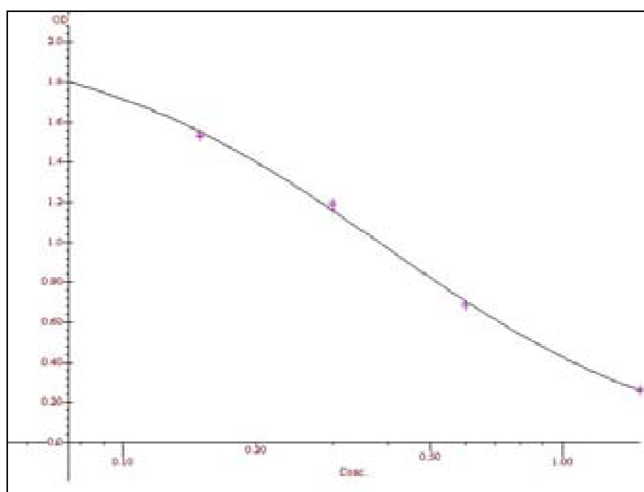
| 項目 | | 単位 | 検量線用標準溶液 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ﾌﾞﾗﾝｸ | STD1 | STD2 | STD3 | STD4 |
| 所定濃度 | | μg/L | 0 | 0.15 | 0.30 | 0.60 | 1.5 |
| 実測回数 | | 回 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| ELISA 実測（吸光度） | 1 | ー | 2.031 | 1.529 | 1.165 | 0.683 | 0.258 |
| | 2 | ー | 2.024 | 1.534 | 1.183 | 0.694 | 0.268 |
| | 3 | ー | 2.027 | 1.536 | 1.183 | 0.690 | 0.264 |

**表 5.1.2 採用した回帰式係数[ Y = B + ( A – B )/(1 + ( C * X^N))の場合 )**

| 回帰式の係数 | A | B | C | N | R^2 |
|---|---|---|---|---|---|
| 値 | 2.03 | -0.0689 | 3.25 | 1.26 | ＊ |

* ソフトウエアの仕様のため R^2 は計算されない

**図 5.1.1 検量線**



### ② 試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは、以下に示すとおりである。

**表 5.1.3 対象物質試料溶液の測定データ**

| 項目 | | | 単位 | 試験用試料溶液 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 溶液 S1 | 溶液 S2 | 溶液 S3 | 溶液 S4 | 溶液 S5 |
| 調製濃度 | | | μg/L | 0 | 0.15 | 0.30 | 0.60 | 1.5 |
| 実測回数 | | | 回 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| ELISA 実測 | 吸光度 | 1 | − | 1.985 | 1.561 | 1.200 | 0.669 | 0.273 |
| | | 2 | − | 2.069 | 1.578 | 1.178 | 0.660 | 0.269 |
| | | 3 | − | 2.089 | 1.595 | 1.210 | 0.677 | 0.270 |
| | | 平均 | − | 2.048 | 1.578 | 1.196 | 0.669 | 0.271 |
| | 換算値 | | μg/L | | 0.141 | 0.283 | 0.640 | 1.45 |
| 標準偏差 | | | μg/L | | 0.0055 | 0.0072 | 0.0090 | 0.0083 |
| 変動係数 | | | % | | 3.9 | 2.5 | 1.4 | 0.57 |
| 相対値* | | | % | | 91 | 95 | 104 | 98 |

* 調整濃度を 100%としたときの各実測濃度（3 重測定の平均値）との割合（%）

## (2) 検出下限及び定量下限

### ① 検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は、以下に示すとおりである。

**表 5.1.4 検量線用標準溶液の測定データ**

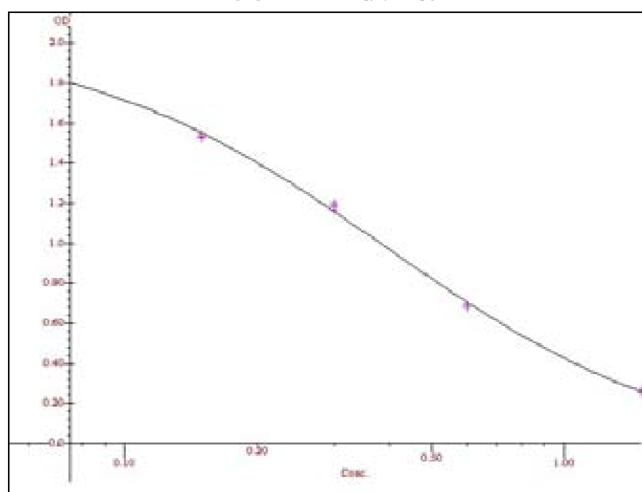
| 項目 | | 単位 | 検量線用標準溶液 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ﾌﾞﾗﾝｸ | STD1 | STD2 | STD3 | STD4 |
| 所定濃度 | | μg/L | 0 | 0.15 | 0.30 | 0.60 | 1.5 |
| 実測回数 | | 回 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| ELISA 実測（吸光度） | 1 | − | 2.031 | 1.529 | 1.165 | 0.683 | 0.258 |
| | 2 | − | 2.024 | 1.534 | 1.183 | 0.694 | 0.268 |
| | 3 | − | 2.027 | 1.536 | 1.183 | 0.690 | 0.264 |

### 表 5.1.5 採用した回帰式係数[Y = B + ( A – B )/(1 + ( C * X^N))の場合 )

| 回帰式の係数 | A | B | C | N | R^2 |
|---|---|---|---|---|---|
| 値 | 2.03 | -0.0689 | 3.25 | 1.26 | ＊ |

*　ソフトウエアの仕様のため R^2 は計算されない

### 図 5.1.2 検量線




### ② 試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは、以下に示すとおりである。

### 表 5.1.6.1 対象物質試料溶液の測定データ

**（検出下限１，定量下限）**

<table>
<tr><th colspan="3" rowspan="2">項目</th><th rowspan="2">単位</th><th colspan="8">試験用試料溶液</th></tr>
<tr><th colspan="8">溶液 S1</th></tr>
<tr><td colspan="3">調製濃度</td><td>μg/L</td><td>0.15</td><td>0.15</td><td>0.15</td><td>0.15</td><td>0.15</td><td>0.15</td><td>0.15</td><td>0.15</td></tr>
<tr><td colspan="3">実測回数</td><td>回</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td></tr>
<tr><td rowspan="5">ELISA<br>実測</td><td rowspan="4">吸光度</td><td>1</td><td>—</td><td>1.538</td><td>1.56</td><td>1.597</td><td>1.632</td><td>1.578</td><td>1.584</td><td>1.617</td><td>1.579</td></tr>
<tr><td>2</td><td>—</td><td>1.591</td><td>1.642</td><td>1.625</td><td>1.661</td><td>1.595</td><td>1.64</td><td>1.627</td><td>1.603</td></tr>
<tr><td>3</td><td>—</td><td>1.562</td><td>1.596</td><td>1.582</td><td>1.526</td><td>1.586</td><td>1.614</td><td>1.616</td><td>1.586</td></tr>
<tr><td>平均</td><td>—</td><td>1.564</td><td>1.599</td><td>1.601</td><td>1.606</td><td>1.586</td><td>1.613</td><td>1.620</td><td>1.589</td></tr>
<tr><td colspan="2">換算値</td><td>μg/L</td><td>0.146</td><td>0.134</td><td>0.134</td><td>0.133</td><td>0.139</td><td>0.131</td><td>0.128</td><td>0.138</td></tr>
<tr><td colspan="3">標準偏差</td><td>μg/L</td><td colspan="8">0.0055</td></tr>
</table>

検出下限（3SD）＝0.016μg/L

定量下限（10SD）＝0.055μg/L

**表 5.1.6.2 対象物質試料溶液の測定データ**

**(検出下限２)**

| 項目 | | 単位 | 試験用試料溶液 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ﾌﾞﾗﾝｸ | | STD1 | STD2 | STD3 | STD4 |
| 所定濃度 | | μg/L | 0 | | 0.15 | 0.30 | 0.60 | 1.5 |
| 実測回数 | | 回 | 10 | | 3 | 3 | 3 | 3 |
| ELISA 実測（吸光度） | 1 | － | 2.098 | 2.098 | 1.529 | 1.165 | 0.683 | 0.258 |
| | 2 | － | 2.094 | 2.104 | 1.534 | 1.183 | 0.694 | 0.268 |
| | 3 | － | 2.082 | 2.101 | 1.536 | 1.183 | 0.690 | 0.264 |
| | 4 | － | 2.046 | 2.083 | － | － | － | － |
| | 5 | － | 2.063 | 2.063 | － | － | － | － |

ブランク値の SD：0.018

ブランク値平均吸光度－3SD：2.08－0.055＝2.02

濃度換算値：0.011μg/L

## (3) 繰返し再現性

### ① 検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は、以下に示すとおりである。

**表 5.1.7 検量線用標準溶液の測定データ**

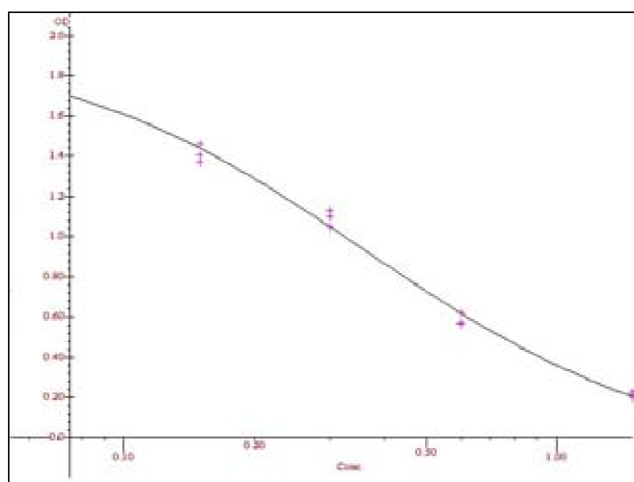
| 項目 | | 単位 | 検量線用標準溶液 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ﾌﾞﾗﾝｸ | STD1 | STD2 | STD3 | STD4 |
| 所定濃度 | | μg/L | 0 | 0.15 | 0.30 | 0.60 | 1.5 |
| 実測回数 | | 回 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| ELISA 実測（吸光度） | 1 | － | 1.933 | 1.371 | 1.053 | 0.573 | 0.200 |
| | 2 | － | 1.963 | 1.407 | 1.102 | 0.567 | 0.216 |
| | 3 | － | 2.012 | 1.460 | 1.129 | 0.623 | 0.233 |

**表 5.1.8 採用した回帰式係数[Y = B + ( A – B )/(1 + ( C * X^N))の場合 )**

| 回帰式の係数 | A | B | C | N | R^2 |
|---|---|---|---|---|---|
| 値 | 1.97 | -0.103 | 3.45 | 1.22 | ＊ |

* ソフトウエアの仕様のため R^2 は計算されない

図 5.1.3 検量線



### ② 試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは、以下に示すとおりである。

表 5.1.9 対象物質試料溶液の測定データ

| 項目 | | | 単位 | 試験用試料溶液 | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 溶液 S3 | | | | | | | |
| 調製濃度 | | | μg/L | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 実測回数 | | | 回 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| ELISA 実測 | 吸光度 | 1 | ー | 0.717 | 0.721 | 0.705 | 0.742 | 0.729 | 0.771 | 0.802 | 0.729 |
| | | 2 | ー | 0.764 | 0.740 | 0.717 | 0.743 | 0.742 | 0.737 | 0.720 | 0.738 |
| | | 3 | ー | 0.722 | 0.729 | 0.745 | 0.746 | 0.751 | 0.736 | 0.703 | 0.722 |
| | | 平均 | ー | 0.738 | 0.730 | 0.722 | 0.744 | 0.741 | 0.748 | 0.742 | 0.730 |
| | 換算値 | | μg/L | 0.496 | 0.500 | 0.506 | 0.488 | 0.491 | 0.485 | 0.490 | 0.500 |
| 標準偏差 | | | μg/L | 0.0068 | | | | | | | |
| 変動係数 | | | % | 1.4 | | | | | | | |

## (4) 日間再現性

### ① 検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は、以下に示すとおりである。